

【総説】

小児のEpstein-Barrウイルス関連リンパ増殖性疾患

Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative diseases in children

金沢大学医薬保健研究域医学系血管発生発達病態学
(小児科学)

和田 泰 三

はじめに

Epstein-Barrウイルス (EBV) は、 γ ヘルペスウイルス亜科に分類されるヒトヘルペスウイルスで、1964年に赤道アフリカに多発するバーキットリンパ腫より発見された¹⁾。EBVはヒトに普遍的に存在し、日本においては主として乳児期にB細胞を標的細胞として初感染する。多くの場合無症状に経過、一部の例で伝染性単核症を発症するが、EBV特異的免疫により感染は制御され、EBVはB細胞に潜伏感染を終生続ける。EBVは非常にありふれたウイルスである一方、これまでに数多くの疾患と関連することが判明している²⁾。近年では、移植やエイズなどによる免疫抑制状態におけるB細胞リンパ増殖性疾患のほか、EBVがB細胞以外のT細胞やNK細胞へ異所性に感染し、様々なT/NK細胞リンパ増殖性疾患を引き起こすことが明らかにされ注目されている (表1)。本稿では、小児～若年成人にみられるT/NK細胞リンパ増殖性疾患を中心に、EBV感染症に関する最近の知見について紹介する。

1. EBV初感染と伝染性単核症

EBVは線状の二本鎖DNAウイルスであるが、潜伏感染の状態では両末端のterminal repeatを介してエピゾームという環状構造をとる。初感染時、EBVは唾液を介し咽頭上皮から侵入し、B細胞に感染する。感染B細胞は不死化・増殖し、リンパ節から末梢血へと感染を拡大させるが、NK細胞、ウイルス特異的細胞傷害性T細胞 (CTL) などにより制御される。EBV初感染の臨床経過の軽重は、感染に対する免疫応答の強弱により規定されるとされる。乳幼児期では不顕性感染が多く、年長児および若年成人では伝染性単核症に進展する機会が増大するのは、加齢に伴い強力な免疫応答が起こるためと考えられている。つまり伝染性単核症は、EBV感染B細胞の増殖により惹起されたT細胞の応答を反映する良性リンパ増殖性疾患である。臨床的には発熱、咽頭炎、頸部リンパ節腫脹などを特徴とし、基本的に自然寛解する。急性期には、HLA-DR抗原を指標とした活性化CD3⁺T細胞が著明に増加し、CD4⁺T細胞に比べCD8⁺T細胞の増加がより顕著のためCD4/CD8比は逆転する。また、増加しているCD8⁺T細胞の大多数は、活性化/メモリー形質であるCD45RO抗原を発現している。増加している活性化T細胞の多くはアポトーシスによる細胞死に陥りやすいが、その理由としてFas抗原の発現増強と抗アポトーシ

ス蛋白であるBcl-2の発現減弱があげられている。

2. EBV関連T/NK細胞リンパ増殖性疾患

EBVがB細胞以外のリンパ系細胞に感染、その異常増殖が本態となる重篤な疾患が知られている³⁾ (表1)。EBVのB細胞への感染は、糖蛋白gp350がB細胞上のCD21分子と結合し、HLAクラスII分子がコレセプターとなり行われるが、一般にT/NK細胞ではCD21は発現していないとされており、EBVのT/NK細胞への感染メカニズムは不明な点が多い。伝染性単核症患者の扁桃やリンパ節においてEBVゲノム陽性T/NK細胞が存在すると報告されており、EBV初感染時にはB細胞以外に一部のT/NK細胞にも感染している可能性が指摘されている。また、EBV潜伏感染細胞は、ウイルス遺伝子の発現パターンからいくつか分類されるが、EBV感染T/NK細胞は限定されたウイルス関連抗原しか発現しないため (Latency II)、宿主CTL反応が惹起されにくいと考えられている。

これらT/NK細胞リンパ増殖性疾患のうち、小児の全身性疾患として特に重要なものが、EBV関連血球貪食性リンパ組織球症 (EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis; EBV-HLH) またはEBV関連血球貪食症候群EBV-associated hemophagocytic syndrome; EBV-HPS) と慢性活動性EBV感染症 (chronic active EBV infection; CAEBV) である⁴⁾。臨床的には前者が急性型、後者が慢性型のT/NK細胞リンパ増殖性疾患といえる。両者に共通の遺伝的背景があるかどうかは不明であるが、いずれもNK細胞やT細胞など、B細胞以外のリンパ

表1. EBV関連リンパ増殖性疾患

B細胞リンパ増殖性疾患
バーキットリンパ腫
ホジキンリンパ腫
移植後リンパ増殖性疾患
AIDS関連リンパ増殖性疾患
膿胸関連リンパ腫
加齢性EBV関連B細胞リンパ増殖性疾患
T/NK細胞リンパ増殖性疾患
EBV関連血球貪食性リンパ組織球症 (EBV-HLH)
慢性活動性EBV感染症 (CAEBV)
蚊刺過敏症
重症型種痘様水疱症
鼻性T/NK細胞リンパ腫
末梢性T細胞リンパ腫
アグレッシブNK細胞リンパ腫

球に感染し、これがクローン性に増殖すること、悪性化や高サイトカイン血症を合併するなどの共通の特徴を有する。さらに、このような合併症により高率に致死的な経過をたどることから、早期の診断と治療的介入が必要とされる。いずれも日本を含む東アジアの小児および若年成人に多く認められる。

1) EBV-HLH

HLHは、高熱、脾腫、汎血球減少、肝障害、凝固異常などを呈し、組織球の増殖と血球貪食像が骨髓、リンパ節、肝臓、脾臓などでみられる症候群である。T細胞、NK細胞、マクロファージの異常活性化と過剰なサイトカイン産生により発症すると考えられている。HLHは様々な原因により引き起こされるが、大きく原発性（遺伝性）と二次性の2つに分類される。原発性HLHには、パーフォリンなどの細胞傷害性顆粒の機能や放出に関与する遺伝子異常が原因である家族性血球貪食性リンパ組織球症や、X連鎖リンパ増殖症候群などの原発性免疫不全症が含まれる。一方、二次性HLHは、感染症、悪性腫瘍や膠原病に続発するが、特定の遺伝子異常は見つからない。本邦のHLHのうち最も多いのがEBV-HLHであり、感染症関連HLHの過半数を占める。EBV-HLHは、EBVの初感染に引き続き、明らかな免疫不全のない乳幼児に発症することが多い。しかしCAEBVや家族性血球貪食性リンパ組織球症などに合併して発症する場合もあり、基礎疾患の検索が重要である。

EBV-HLHの主要な病態は、CD8⁺T細胞を中心とした異所性のEBV感染とそのモノクローナルな増殖である³⁾（図1）。これによりCD8⁺T細胞が活性化し、IFN- γ をはじめとする高サイトカイン血症が起こり、マクロファージが活性化される。我々はごく最近、これまで不明であったEBV感染細胞の特徴を初めて明らかにした^{4,5)}。すなわち、EBV感染CD8⁺T細胞は、HLA-DR発現強陽性でCD5発現の低下した細胞集団（CD5^{-/dim} HLA-DR⁺⁺ CD8⁺T細胞）としてフローサイトメトリーにより同定可

能であり、これらの細胞は、クローン性増殖を反映して特定のTCR V β に特異的なモノクローナル抗体で認識されることが多く、また異常活性化を反映して大型化した細胞であることが判明した（図2）。いずれの症例においても著明に増加していたCD5^{-/dim} HLA-DR⁺⁺CD8⁺T細胞は、治療に伴い、従来の病勢マーカーである血清フェリチンや血中EBVゲノム量と並行して減少した。本方法は、少量の末梢血で解析可能であり乳幼児にも適用しやすく、また迅速に実施できることから、重篤な疾患であるEBV-HLHの早期診断や病勢評価の新規の臨床指標になると考えられた。さらにEBV-HLHでは炎症性サイトカインであるネオプテリン、IL-6、IL-18、可溶性TNFレセプターが高値であり、特徴的なサイトカインプロファイリングを示すことが判明した⁶⁾（図3）。EBV-HLHの治療戦略は、T細胞活性化と高サイトカイン血症に対する免疫抑制療法と、EBV感染細胞のクローン性増殖に対する化学療法を組み合わせた免疫化学療法であり、以上のような細胞解析とサイトカインプロファイリングを併用することより、個々の患児の病態に応じた治療を行うことが可能となる。

CD5発現低下の機序は現在のところ不明であるが、EBV感染CD8⁺T細胞の異常活性化や増殖の機序に関して、いくつかの考察がなされている。ウイルス蛋白であるLMP1 (late membrane protein 1) が、後述するX連鎖リンパ増殖症候群の主要な原因遺伝子であるSAP発現を抑制し、X連鎖リンパ増殖症候群でみられるT細胞の異常活性化と同様な病態を引き起こす可能性が指摘されている。またウイルス蛋白BHRF1はBcl-2のホモログであり、EBV感染細胞のアポトーシスの回避、増殖に関与している可能性がある。さらにCD5ノックアウトマウスのT細胞ではTCR刺激に対して過剰反応を示すことが報告されており、EBV-HLHのCD8⁺T細胞でみられるCD5の発現低下は、EBV感染細胞のクローン性増殖に有利に働いている可能性がある。

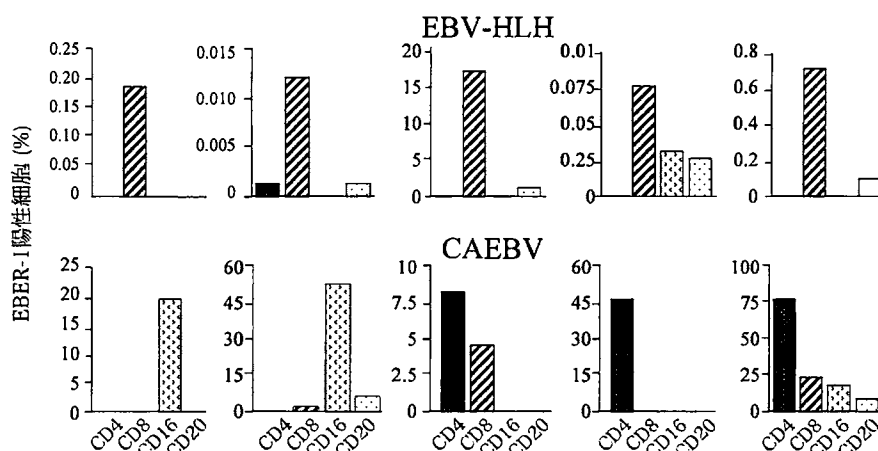


図1. EBV感染の標的細胞

EBV-HLHとCAEBV各5例のリンパ球亜群におけるEBV感染細胞の比率をEBER-1 in situハイブリダイゼーション法により検討した。（文献3より改変）

ここで2008年に改訂されたWHOリンパ腫分類について少し触れたい。新WHO分類では、EBV positive T-cell lymphoproliferative disorders of childhood (小児EBV陽性T細胞リンパ増殖性疾患) という章が新たに加わった。本章は、Systemic EBV⁺T-cell lymphoproliferative disease of childhood (小児全身性EBV陽性T細胞リンパ増殖性疾患) とHydroa vacciniforme-like lymphoma (種痘様水疱症様リンパ腫) から成る。前者はEBV-HLHと重なる部分が多いが、本邦のEBV-HLHの一部には、自然軽快に近い予後良好なものやEBV感染細胞がNK細胞のものが含まれると報告されており、一致しない部分もある。さらにCAEBVとも一部オーバーラップしていると考えられ、今後さらなる整理がなされることが望まれる。

2) CAEBV

CAEBVは、伝染性単核症様症状を繰り返し、EBV抗体価の異常や末梢血・病変組織中のEBVゲノム量の著増を認める疾患で、明らかな他の基礎疾患を有さないものをいう。伝染性単核症様症状とは、発熱、肝脾腫、リンパ節腫脹などをさす。感染症という名が付いているが、その本態はリンパ増殖性疾患であり、経過中に臓器障害、HLH、リンパ腫などの合併症をしばしば認め、予後不良である。発症年齢は乳幼児期から50歳以上に渡り、2005年の全国調査では平均11.3歳であった。いくつかの診断基準があるが、2003年のEBV感染症研究会 (<http://www.ebken.org>) からのものがよく使用される⁷⁾。

CAEBVにおけるEBVの標的細胞は、T細胞もしくは

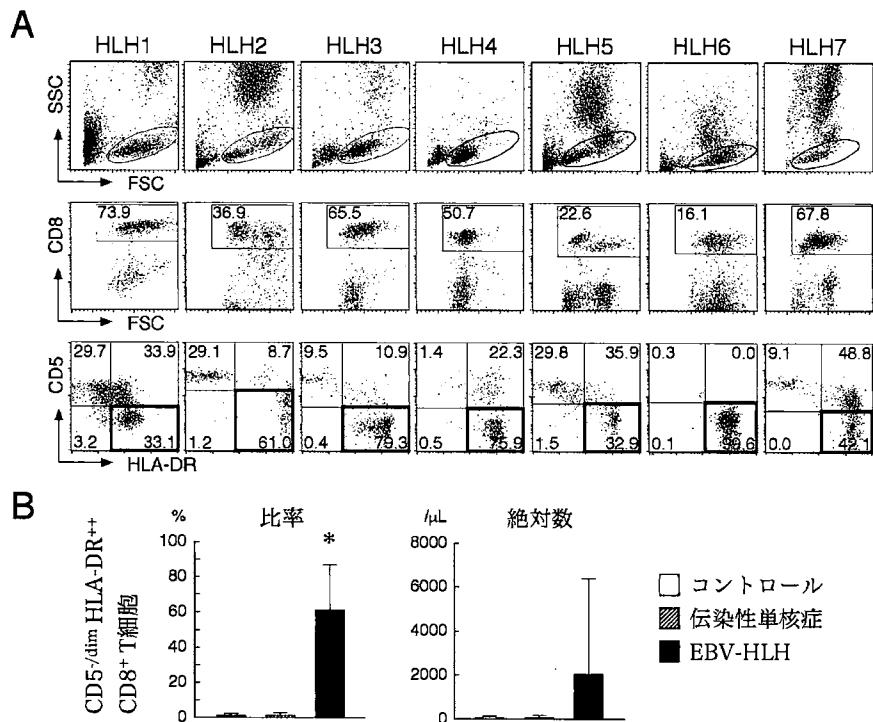


図2. EBV-HLHにおけるEBV感染細胞の特徴

EBV感染細胞は、モノクローナルに増殖するCD5発現の低下した活性化CD8陽性T細胞として同定可能であった。(文献5より改変)

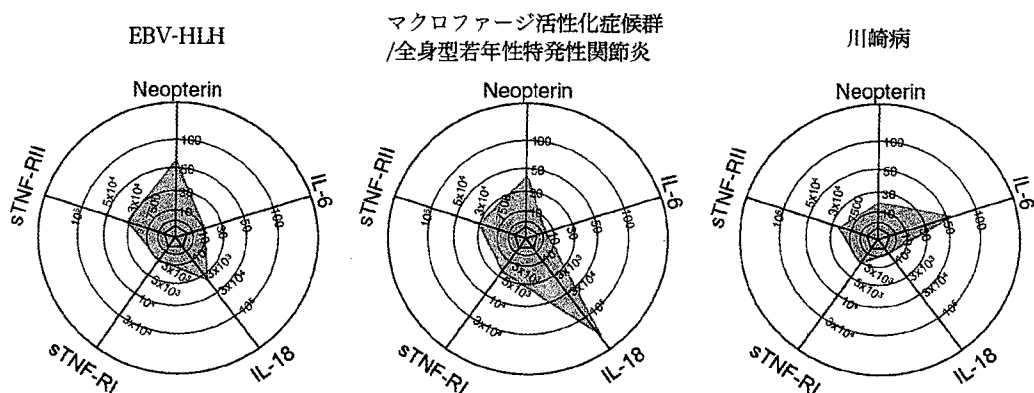


図3. EBV-HLHのサイトカインプロファイル

血中の各種サイトカインをレーダーチャートにより表示した。内側の五角形は正常対照を示す。(文献6より改変)

NK細胞である³⁾ (図1)。これらEBV感染細胞のモノクローナル (一部はオリゴクローナル) な増殖と様々な臓器への浸潤が, CAEBVの基本的な病態と考えられている。T細胞型CAEBVでの主要なEBV感染細胞は, EBV-HLHと異なりCD4⁺T細胞であることが多いが, CD8⁺T細胞やTCR $\gamma\delta$ 細胞の場合も報告されている。CAEBV患者由来のTあるいはNK細胞株では, CD40とCD40Lが共発現しており, CD40-CD40LシグナルがEBV感染T/NK細胞の生存を助長している可能性が指摘されている。また, 本邦におけるCAEBVのEBV感染細胞はほぼT/NK細胞のみと考えてよいが, 米国ではB細胞型CAEBVが多く認められている⁹⁾。この違いについての理由はよくわかっていない。

CAEBVの臨床的特徴は, EBVの感染細胞により異なることが知られている⁹⁾。T細胞型CAEBVでは, 発熱, 肝脾腫が著明で, EBV関連抗体価が高いことが特徴である。活性化したEBV感染T細胞からIFN- γ やTNF- α などの炎症性サイトカインが産生され, 強い炎症が引き起こされるためと考えられている。一方, NK細胞型CAEBVでは, 蚊刺過敏症 (図4) とIgE高値が特徴である。末梢血中には大顆粒リンパ球 (NK細胞) が増えているが, T細胞型と比べEBV関連抗体価は低いことも多い。NK細胞型の予後はT細胞型に比べ比較的良いとされていたが, 現在では, 長期的予後には大差なくどちらも不良であることが判明している。予後不良因子として, 発症時の年

齢が8歳以上, 血小板が $12\text{万}/\mu\text{L}$ 以下があげられている。

CAEBVの治療に関しては, これまでに抗ウイルス療法, 免疫賦活療法や免疫抑制療法などが試みられてきたが, 確立した方法はない。しかし近年, EBV感染T/NK細胞の根絶を目的として, 多剤併用化学療法や造血幹細胞移植が行われており, 特に骨髄非破壊的前処置を用いた造血幹細胞移植により良好な成績が得られている¹⁰⁾。

3) 蚊刺過敏症と重症種痘様水疱症

蚊刺過敏症と重症種痘様水疱症は, いずれも皮膚症状を特徴とするEBV関連T/NKリンパ増殖性疾患で, CAEBVの部分症状としても認められる。

蚊刺過敏症では, 蚊刺に対して強い局所反応を示し, やがて皮膚病変が潰瘍や痂皮形成など重症化するのに伴い, 発熱, 全身倦怠感などの全身症状を認めるようになる (図4)。末梢血中には活性化したEBV感染NK細胞がクローン性に増加し, 皮膚病変部ではCTLとともにEBV感染NK細胞が集簇している。患者ではIgE高値のみならず蚊抗原に対する特異IgEが認められ, *in vitro*にてT細胞は蚊抗原に反応して増殖, 活性化する。このことから蚊刺過敏症では, 蚊刺により活性化された肥満細胞やT細胞が種々のケモカイン, サイトカインを産生, これがEBV感染NK細胞の活性化と増殖, それに伴う強い組織の炎症と傷害を惹起していると考えられる¹¹⁾。

種痘様水疱症は小児の光線過敏症の一つで, 日光露光部に臍窩を伴う小水疱を生じる疾患である。一般的には

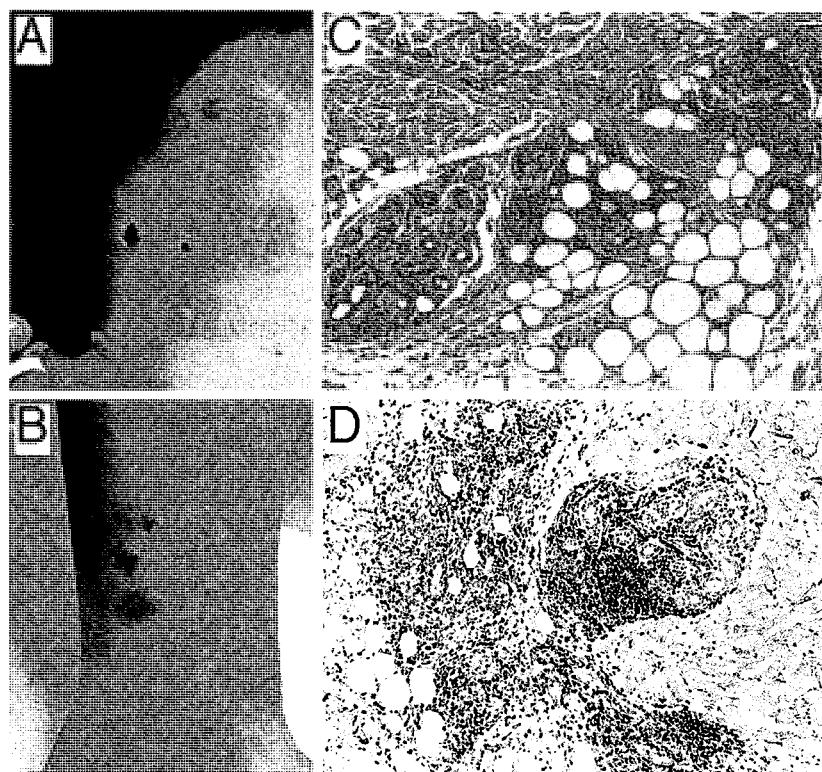


図4. NK細胞型CAEBVにみられた蚊刺過敏症

蚊刺により強い局所反応を示した皮膚組織 (A, B) では真皮内に多数のリンパ球が浸潤 (C), その多くがEBER-1陽性のEBV陽性細胞であった (D)。 (文献11より)

予後良好で自然寛解する例が多いが、一部に全身に播種し致死の経過をとる重症型がある。この重症型が前述の新WHO分類のHydroa vacciniforme-like lymphomaに相当するものと考えられる。自然治癒型の種痘様水疱症は全世界でみられるが、重症型はアジアや中南米でのみに認められる。重症型種痘様水疱症におけるEBV感染細胞はT細胞、特にTCR $\gamma\delta$ 細胞とする報告が多く、クローン性に増殖しており、皮膚病変部や末梢血中に認められる¹²⁾。

3. 免疫異常症とEBV感染

EBV感染は著明なCTLの活性化と増殖を惹起し、強い全身の免疫応答を伴う病態である。したがって、EBV感染の免疫系に与えるインパクトは強力であり、何らかの免疫応答の異常がある場合には、EBV感染を契機としてその異常が顕在化することがある。

X連鎖リンパ増殖症候群は、EBV初感染後に男児のみに致死の伝染性単核症を発症することで知られる原発性免疫不全症である。通常の感染症はほぼ正常に経過するが、EBV感染は致命的な病態を惹起する。その他の症状には、悪性リンパ腫や異常ガンマグロブリン血症などがあるが、EBVに感染するまでは異常を示さないことが多い。本症候群の大部分がSLAM (signaling lymphocyte activation molecule) - SAP (SLAM associated protein) システムの異常によることが明らかにされている。SAPの役割は不明な部分も多いが、NK細胞やCTLの活性化機序に密接に関わっていると考えられている。SAPの機能に異常があると、これらの細胞の活性化が抑制されキラー活性が著しく低下、その結果EBV感染B細胞の異常増殖とそれに伴うT細胞の異常な持続活性化が生じると考えられる。

自己免疫性リンパ増殖症候群は、Fas-FasLシステムの異常に起因する症候群で、溶血性貧血や血小板減少などの自己免疫による症状と、脾腫やリンパ節腫脹などのリンパ増殖症による症状を特徴とする。本症では、細胞死のシグナル (カスパーゼを介したアポトーシス誘導シグナル) が伝達されず、異常細胞が細胞死を起こさずに残存する。その結果、自己応答性リンパ球、ウイルス感染細胞、腫瘍細胞などの除去が制限され、多様な自己免疫疾患や悪性腫瘍が合併する。したがって、著しいT細胞活性化と免疫制御機構の賦活化が起こるEBV感染症に罹患した場合、Fas-FasLシステムの機能障害により異常な病態が引き起こされることが予想される。実際にCAEBV様の病態を呈する自己免疫性リンパ増殖症候群患者が散見されるほか、EBV陽性ホジキンリンパ腫を発症するリスクが高いことが知られている。

おわりに

EBVは、感染細胞の違いにより伝染性単核症、EBV-HLH、CAEBVなど多彩な病態を示すことが明らかになっている。今後、EBV感染に対する免疫応答の詳細がさらに解明され、EBV関連疾患の体系化が進むとともに、

正確な早期診断法、適切な治療法が開発されることが望まれる。

謝 辞

本総説執筆にあたり、ご指導いただきました金沢大学医薬保健研究域小児科教授谷内江昭宏教授に深謝いたします。また、今回の執筆の機会を与えていただきました金沢大学十全医学会編集委員長 井関尚一教授ならびに関係方々に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Kutok JL, Wang F. Spectrum of Epstein-Barr virus-associated diseases. *Annu Rev Pathol* 1: 375-404, 2006
- 2) Yachie A, Kanegane H, Kasahara Y. Epstein-Barr virus-associated T-/natural killer cell lymphoproliferative diseases. *Semin Hematol* 40: 124-132, 2003
- 3) Kasahara Y, Yachie A, Takei K, et al. Differential cellular targets of Epstein-Barr virus (EBV) infection between acute EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis and chronic active EBV infection. *Blood* 98: 1882-1888, 2001
- 4) Wada T, Kurokawa T, Toma T, et al. Immunophenotypic analysis of Epstein-Barr virus (EBV)-infected CD8⁺T cells in a patient with EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Eur J Haematol* 79: 72-75, 2007
- 5) Toga A, Wada T, Sakakibara Y, et al. Clinical significance of cloned expansion and CD5 down-regulation in Epstein-Barr Virus (EBV)-infected CD8⁺T lymphocytes in EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. *J Infect Dis* 201: 1923-1932, 2010
- 6) Shimizu M, Yokoyama T, Yamada K, et al. Distinct cytokine profiles of systemic-onset juvenile idiopathic arthritis-associated macrophage activation syndrome with particular emphasis on the role of interleukin-18 in its pathogenesis. *Rheumatology* 49: 1645-1653, 2010
- 7) Okano M, Kawa K, Kimura H, et al. Proposed guidelines for diagnosing chronic active Epstein-Barr virus infection. *Am J Hematol* 80: 64-69, 2005
- 8) Calattini S, Sereti I, Scheinberg P, Kimura H, Childs RW, Cohen JL. Detection of EBV genomes in plasmablasts/plasma cells and non-B cells in the blood of most patients with EBV lymphoproliferative disorders using Immuno-FISH. *Blood*, in press
- 9) Kimura H, Hoshino Y, Hara S, et al. Differences between T cell-type and natural killer cell-type chronic active Epstein-Barr virus infection. *J Infect Dis* 191: 531-539, 2005
- 10) Kawa K, Sawada A, Sato M, et al. Excellent outcome of allogeneic hematopoietic SCT with reduced-intensity conditioning for the treatment of chronic active EBV infection. *Bone Marrow Transplant*, in press
- 11) Wada T, Yokoyama T, Nakagawa H, et al. Flow cytometric analysis of skin blister fluid induced by mosquito bites in a patient with chronic active Epstein-Barr virus infection. *Int J Hematol* 90: 611-615, 2009
- 12) Kimura H, Miyake K, Yamauchi Y, et al. Identification of Epstein-Barr virus (EBV)-infected lymphocyte subtypes by flow cytometric in situ hybridization in EBV-associated lymphoproliferative diseases. *J Infect Dis* 200: 1078-1087, 2009